

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ОТРАВЛЕНИЯХ БЫТОВЫМ ГАЗОМ

Калинина Е.Ю.¹, Ягмуров О.Д.²

¹ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург, Россия (460000, Оренбург, улица Советская, 6), e-mail: kalininy@inbox.ru

²ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия (197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8), e-mail: sudmedspb@mail.ru

В настоящее время в связи со все более широким использованием продуктов газоперерабатывающих производств участились случаи отравлений бытовым газом. Клинические проявления отравлений бытовым газом очень разнообразны. Вопросы воздействия бытового газа на органы иммунной системы остаются малоизученными. При моделировании острого смертельного отравления бытовым газом нами было исследовано морфофункциональное состояние органов иммунной системы экспериментальных животных (селезенки и пейеровых бляшек). В исследовании использовались методы световой микроскопии и гистохимии. При этом были выявлены очаговые некротические изменения в красной пульпе, повышение активности ферментов НАД.Н2-дегидрогеназы и 5'-нуклеотидазы, снижение количества лимфоцитов. Полученные данные позволяют понять основные внутриклеточные и метаболические механизмы токсического действия бытового газа на морфофункциональное состояние периферических органов иммунной системы и могут указывать на один из механизмов наступления смерти при подобных отравлениях.

Ключевые слова: бытовой газ, отравление, органы иммунной системы, селезенка, пейеровы бляшки.

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN ORGANS OF THE IMMUNE SYSTEM IN CASES OF POISONING WITH DOMESTIC GAS

Kalinina E.Y.¹, Yagmurov O.D.²

¹ The Orenburg medical University, Orenburg, Russia (460000, Orenburg, Sovetskai street, 6), e-mail: kalininy@inbox.ru

² GBOU VPO "First St. Petersburg State Medical University of a Name of the Academician I.P. Pavlov" of Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, Russia (197022, Russian Federation, St. Petersburg, Lev Tolstoy St., 6-8), e-mail: sudmedspb@mail.ru

Nowadays cases of poisoning with domestic gas have become more frequent because of increased use of the products of gas processing plants. Clinical manifestations of poisoning of domestic gas are very diverse. The impact of domestic gas to the organs belonging to the immune system remains poorly understood. Therefore, we studied morphofunctional status of organs belonging to the immune system of experimental animals (spleen, Peyer's glands) in the simulation of fatal poisoning. We used methods of light microscopy and histochemistry in this research. We found focal necrotic changes in red pulp of spleen, increasing of activity of NAD-H2-dehydrogenase and 5'-nucleotidase, decrease in the number of lymphocytes. The obtained data allows understanding main intracellular and metabolic toxic action mechanisms of domestic gas on morphofunctional status of organs belonging to the immune system and can indicate one of the mechanisms of death from such poisoning.

Keywords: domestic gas, poisoning, organs of the immune system, spleen, Peyer's glands.

В настоящее время в связи с бурным развитием газоперерабатывающего комплекса в нашей стране и относительной дешевизной использования данного вида топлива все более широкое применение в народном хозяйстве получает использование бытового газа. Применяется он в качестве топлива в быту и промышленности, служит исходным продуктом для получения различных синтетических продуктов. Кроме того, нередко случаи использования алканов – бутана и пропана в качестве токсикантов наряду с другими

психотропными средствами, что связано с ярко выраженным наркотическим эффектом предельных алканов [4,5].

Согласно статистике, в судебно-медицинской практике достаточно часто встречаются отравления бытовым газом (смесью пропана и бутана) как при использовании его в промышленности и техногенных происшествиях, так и в связи с попыткой применения смеси этих веществ с целью достижения наркотического эффекта.

Клинические проявления отравления бытовым газом очень разнообразны. Это и нарушения со стороны системы кровообращения в виде изменения ритма, признаков миокардиодистрофии на ЭКГ [3], и расстройства в деятельности центральной нервной системы, проявляющиеся головокружением, потерей сознания, тошнотой рвотой. Все это связано с разнообразными токсикологическими характеристиками данной газовой смеси. Бутан обладает ярким наркотическим эффектом, пропан оказывает кардиотоксическое действие [2,7,6]. Помимо вышеуказанного при воздействии бытового газа отмечается реакция иммуннокомпетентной системы [1].

Целью данного экспериментального исследования явилось изучение морфофункциональных изменений органов иммунной системы крыс при воздействии бытового газа.

Материал и методы

Работа выполнена на 100 крысах-самцах линии Вистар, массой от 150 до 250 г (1 группа) в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). 20 интактных крыс служили в качестве контроля (2 группа).

Для создания экспериментальной модели острого смертельного отравления в качестве отравляющего вещества использовался бытовой газ из 5-ти литровых баллонов ГОСТа 15860-84 для газовых плит, который через редуктор под низким давлением подавался в затравочную камеру в течение 10 минут при достижении концентрации 300 мг/л. Смерть животных наступала через 9–10 минут от начала ингаляции. Материал для исследования забирался непосредственно после наступления. Контрольные животные находились в обычной воздушной среде.

Для количественного гистохимического исследования кусочки селезенки размерами 0,5 x 0,5 см вырезались из средней трети органа после его измерения и взвешивания. Для исследования пейеровых бляшек из подвздошной кишки вырезались кусочки толщиной 0,5 см и длиной 1,5–2 см.

Для световой микроскопии кусочки ткани селезенки и пейеровых бляшек крыс фиксировали в 10 % нейтральном формалине в течение 1 сут. Затем кусочки промывали в

проточной воде, обезвоживали и заливали в парафиновые блоки. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином-эозином.

Для гистохимического исследования кусочки ткани селезенки и пейеровых бляшек замораживали в жидком азоте. Для оценки функционального состояния органа в условиях эксперимента был произведен количественный гистохимический анализ ферментативной активности некоторых метаболических показателей.

Морфофункциональное исследование селезенки и пейеровых бляшек состояло в комплексе морфологического и количественного гистохимического исследования. Исследовались все компоненты гистогематического барьера.

С целью исследования процессов потребления энергии нами исследовалась активность фермента НАДН₂-дегидрогеназы по Берстону, которая связана с митохондриальными ферментами. С целью анализа активности трансэндотелиального транспорта, осуществляемого через стенку синусоидов, нами выполнялось гистохимическое выявление 5'-нуклеотидазы – маркера мембранотранспортных процессов по Берстону. Количественная оценка гистохимических и гистознзимологических реакций проводилась с помощью метода прямой цитофотометрии «плаг»-методом. При цитофотометрии оптической плотности клеток специфической паренхимы учитывалось структурное подразделение иммунных органов на Т- и В-зоны. В селезенке измерение активности ферментов в клетках специфической паренхимы проводилось в переартериальной (Т-зона) и маргинальной (В-зона) зонах белой пульпы. В пейеровых бляшках фолликулы и клетки межфолликулярной области соответственно представляли те же зоны специфической паренхимы. Показатели оптической плотности снимались с одной точки цитоплазмы или ядра. В каждой выделенной зоне исследуемых органов проводилось по 50 измерений. В пейеровых бляшках активность ферментативных процессов изучалась в эндотелии синусоидов межфолликулярных зон. Измерение оптической плотности проводилось в 10 полях зрения всех выделенных зон, значения снимались с 30 клеток в каждой из перечисленных зон.

Статистическую обработку количественных данных проводили с использованием программного пакета «Statgraph». Для каждого показателя определяли среднее значение и его стандартную ошибку, значимость различий величин показателей оценивали с помощью критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

Результаты исследования

У животных контрольной группы по результатам гистологического исследования ткани селезенки и пейеровых бляшек отмечается их типичное строение. Селезенка представляет собой сегментированный орган, в каждом сегменте имеется белая пульпа с Т- и

В – зонами; маргинальная зона и маргинальный синус и красная пульпа с венозными синусами, селезеночными тяжами, гемокапиллярами. Синусы представляют собой почти половину среза красной пульпы, пронизывая ее, они составляют единую систему. Стенка венозных синусов состоит из эндотелиальных клеток. Эндотелиальные клетки обладают аргирофильными свойствами и фагоцитарной активностью. В маргинальный синус открываются капилляры фолликула, в нем происходит первичный контакт с антигеном. Белая пульпа селезенки представлена лимфоидной тканью, в которой содержатся Т- и В-лимфоциты и макрофаги.

При моделировании острого смертельного отравления бытовым газом у экспериментальных животных резкое нарастание объема синусоидов обеих исследуемых зон селезенки. В красной пульпе отмечалось наличие мелких очагов некрозов среди больших полнокровных участков со скоплением гемолизированных эритроцитов. Изучение белково-синтетических процессов в эндотелиальных клетках синусоидов различных зон красной пульпы выявило резкое снижение активности НК. В то же время активность фермента энергетического обмена превышала уровень активности НАД-Н2 контрольных животных. Кроме этого определялось повышение активности 5'-нуклеотидазы, что являлось признаком усиления трансэндотелиального транспорта. Полученные данные приведены в таблице № 1.

Таблица 1

Гистохимические изменения ткани селезенки крыс при моделировании острого смертельного отравления бытовым газом

	НАД-Н2	5'-нуклеотидаза
Эксперимент	28,46±1,13	20,26±1,2
Контроль	18,41±1,2	11,12±1,3

При морфологическом исследовании у экспериментальных животных отмечалось увеличение удельного объема белой пульпы и фолликулов селезенки. У животных, подвергавшихся воздействию бытового газа, в маргинальной зоне отмечалось снижение количества лимфоцитов; количество плазматических клеток и макрофагов при этом повышается по сравнению с контрольной группой животных.

При исследовании пейеровых бляшек у контрольной группы животных отмечалось их обычное строение: располагаясь в слизистой оболочке и подслизистой основе подвздошной кишки, они состоят из лимфатических фолликулов, межфолликулярной диффузной лимфоидной ткани и купола. Купола пейеровых бляшек расположены над лимфатическими фолликулами, а межфолликулярная ткань прикрывается ворсинками и

криптами кишечного эпителия. Купол и лимфатические фолликулы пейеровых бляшек составляют единый куполофолликулярный комплекс.

У группы животных, подвергавшихся воздействию бытового газа, отмечалось резкое увеличение удельного объема синусоидов межфолликулярных зон, что было сходным с изменениями сосудистой системы селезенки при данном токсическом воздействии. Все это свидетельствует о наличии общей реакции изучаемых органов иммунной системы, направленной на усиление миграции клеток исследуемых зон. В синусоидах межфолликулярных зон определялось резкое повышение активности ферментов энергетического обмена (НАД-Н₂). Также отмечалось повышение активности ферментов, обеспечивающих трансэндотелиальный транспорт - 5' - нуклеотидазы. Результаты приведены в таблице № 2.

Таблица 2

Гистохимические изменения ткани пейеровых бляшек крыс при моделировании острого смертельного отравления бытовым газом

	НАД-Н ₂	5'-нуклеотидаза
Эксперимент	18,23±1,1	19,15±1,3
Контроль	12,1±1,0	12,23±1,1

При этом было отмечено, что степень повышения активности изучаемых ферментов в ткани пейеровых бляшек была несколько ниже, чем в ткани селезенки.

Было обнаружено, что при воздействии бытового газа в пейеровых бляшках экспериментальной группы животных отмечалось увеличение количества лимфоцитов и плазмоцитов с одновременным снижением количества макрофагов. Все это происходило на фоне описанной выше делимфатизации и деплазматизации селезенки, что свидетельствует о возможной передаче селезенкой части защитных функций другим периферическим органам иммунной системы. Количество пейеровых бляшек в группе животных, подвергавшихся токсическому воздействию бытового газа, не отличалось от количества их у группы контрольных животных. Этот факт может объясняться острым токсическим воздействием отравляющего вещества, не позволяющим в полном объеме задействовать компенсаторные возможности организма.

Заключение

Таким образом, результаты исследования показали, что при воздействии бытового газа на организм экспериментальных животных оказывается прямое токсическое действие на периферические органы иммунной системы, в частности селезенку и пейеровы бляшки. Это подтверждается обнаружением очаговых некрозов в красной пульпе со скоплениями

гемолизированных эритроцитов. Вследствие этого происходят нарушения в системе обезвреживания ксенобиотиков. При этом как признак включения компенсаторных процессов отмечалось повышение активности ферментов НАД-Н₂ фермента энергетического обмена и 5'-нуклеотидазы, обеспечивающей трансэндотелиальный транспорт. Полученные данные позволяют понять основные внутриклеточные и метаболические механизмы токсического действия бытового газа на морфофункциональное состояние периферических органов иммунной системы и могут указывать на один из механизмов наступления смерти при подобных отравлениях.

Список литературы

1. Боев В.М., Сетко Н.П. Сернистые соединения природного газа и их действие на организм. – М.: Медицина, 2001. – 216 с.
2. Бучин В.Н., Селезнев С.Б. Особенности формирования и клиническая структура начальных форм пограничных нервно-психических расстройств у работников крупного газоперерабатывающего производства // Тез. докл. науч.-практич. конференции «Экология и здоровье». – Пенза, 1993. – Ч.П. – С. 70-71.
3. Гилев В.Г. К патоморфологии хронической интоксикации крекинг-газом (экспериментальное исследование). – Уфа, 1971.
4. Киричек А.В., Рассинская Л.А., Широкова Л.В., Симонов Е.А. Случай интоксикации бутаном, приведший к летальному исходу. Суд-мед. эксперт 2009; 52: 3: 21-24.
5. Лазарев Н.В., Левина Э.Н. Вредные вещества в промышленности. – Л.: Медицина, 1976. – С. 9-12; 14-15.
6. Сетко Н.П. Гигиена труда при переработке сероводородсодержащего природного газоконденсата и особенности его биологического действия на организм: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – М., 1990.
7. Шугаев Б. Б. Токсичность и гигиеническое нормирование метилмеркаптана // Тез. докл. XII науч. сессии по химии и технологии органических соединений серы и сернистых нефтей. – Рига: Зинатне, 1971. – С. 472-473.

Рецензенты:

Железнов Л.М., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анатомии человека ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Оренбург;

Полякова В.С., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии ГБОУ
ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Оренбург.